

**Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do
Porto**

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Fenótipo Facial- Influência Genética?

Artigo de revisão bibliográfica

Patrícia Daniela Silva Andrade

Porto, Maio de 2017.

Fenótipo Facial- Influência Genética?

Artigo de revisão bibliográfica Médico-Dentário

Área científica: Genética Orofacial

Unidade curricular:

Monografia de investigação/Relatório de atividade clínica

Autora: Patrícia Daniela Silva Andrade¹

¹ Aluna do 5º ano do Mestrado Integrado de Medicina Dentária da
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto.

E-mail: mimdl12047@fmd.up.pt ou pat.daniela@hotmail.com

Orientadora:

Professora Doutora Paula Cristina dos Santos Vaz Fernandes

Professora Auxiliar de Genética Médica I, II, Orofacial e Prótese Fixa da Faculdade de
Medicina Dentária da Universidade do Porto.

Coorientadora:

Professora Doutora Inês Sansonetty Gonçalves Côrte-Real

Professora Convidada da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto.

Agradecimentos

Aos meus pais e ao meu irmão, um enorme obrigado pelo apoio que me deram, por todos os valores que me transmitiram e por acreditarem sempre em mim. Espero um dia poder retribuir todo o carinho e toda a confiança.

À minha orientadora Professora Doutora Paula Vaz Fernandes e à minha coorientadora Professora Doutora Inês Côrte-Real, que gentilmente aceitaram orientar-me neste projeto. Agradeço a oportunidade que me deram, a confiança que depositaram em mim e toda a atenção que dispenderam para me guiar ao longo desta etapa.

Aos meus amigos da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, pelo apoio prestado e pelos momentos partilhados. A vossa amizade, companheirismo e ajuda, permitiram que cada dia fosse encarado de forma mais positiva.

Índice

Índice de tabelas	V
Índice de figuras	VI
Lista de Siglas e Abreviaturas	VII
Resumo.....	1
Abstract	2
1. Introdução.....	3
2. Material e métodos.....	6
3. Resultados	7
4. Discussão.....	25
5. Conclusão	31
6. Bibliografia	32
7. Anexos	36

Índice de tabelas

Tabela I- SNP's de genes que influenciam a morfologia facial, de acordo com publicações de diferentes GWAS.....	Pág. 9
--	--------

Índice de figuras

Figura 1: Várias fontes de conhecimento sobre a genética da morfologia facial.....Pág. 25

Lista de Siglas e Abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ALDH3A2 - Aldehyde dehydrogenase family 3 subfamily a member 2 gene

ALX3 - Aristaless-like homeobox 3 gene

ALX4 – Aristaless-like homeobox 4 gene

ARN - Ácido Ribonucleico

BARX1- BarH-like Homeobox gene 1

BLAST -Basic Local Alignment Search Tool

BMP - Proteína morfogénica óssea

BMP2- Proteína morfogénica óssea 2

BMP4-7 - Proteína morfogénica óssea 4-7

BMPRI1A - Recetor tipo 1A da proteína morfogenética óssea

BTF3L2 - Basic transcription factor 3-like 2

CACNA2D3 - Calcium voltage-gated channel auxiliary subunit alpha2 delta 3

CDKN3- Cyclin-dependent kinase inhibitor 3 gene

CHD –Chromodomain helicase dna-binding gene family

COL1A1- Collagen type I alpha 1 chain

COL2A1- Collagen type II alpha 1 chain gene

COL17A1- Collagen, type XVII, alpha 1

C5ORF50 - Chromosome 5 open reading frame 50

2D- Bidimensional

3D - Tridimensional

Dickkopf-1 (Dkk-1) - Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor 1 gene

DUSP6 - Dual-specificity phosphatase 6 gene

EDN1 - Endotelina-1

EGFR - Epidermal growth factor receptor

EPB41- Erythrocyte membrane protein band 4.1 gene

FDN - Displasia frontonasal

FGF - Fator de crescimento fibroblástico

FGF-8 - Fator de crescimento fibroblástico 8

FGFR1 - Recetor 1 do factor de crescimento fibroblástico

FOXE1- Forkhead box E1 gene family

FOXP1 - Forkhead box P1 gene

FOXP2 - Forkhead box P2 gene

GATA6 - Gata-binding protein 6 gene

GLI1-3- Glioma-associated oncogene homolog 1-3 gene

GSC - Goosecoid Homeobox gene

GWAS - Genome-wide association study

HAND2 - Heart- and neural crest derivatives-expressed 2 gene

HDAC8 - Histone deacetylase 8

Hes1 - Hairy/enhancer of split family bHLH transcription factor 1

HOXD13 - Homeobox D13 gene

IRF6 - Interferon regulatory factor 6 gene

JAG - Jagged gene family

Kb -Kilobase

LHX – Lim Homeobox gene family

LHX6 - Lim Homeobox gene 6

LTBP2- Latent transforming growth factor-beta-binding protein 2

LZTR1- Leucine zipper-like transcriptional regulator 1

Macc1- Metastasis-associated gene in colon cancer 1 gene

MAFB - Musculoaponeurotic Fibrosarcoma Oncogene family

MATN1- Matrilin 1 (cartilage matrix protein) gene

MED15 - Mediator complex subunit 15

MG - Morfometria geométrica

MIPOL1- Mirror-Image Polydactyly 1 gene

MN1- Meningioma1 proto-oncogene

MORN5- Membrane occupation and recognition nexus repeat containing 5

MSX1- Muscle segment Homeobox gene 1

MSX2- Muscle segment Homeobox gene 2

MYO1H- Myosin IH gene

NOG – Noggin gene

*NSCL/P - Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate / fenda labial não
sindrômica, com ou sem fenda palatina*

OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man

PAX1- Paired Box 1

PAX3 - Paired Box 3

PAX9 - Paired Box 9

PDE8A - Phosphodiesterase 8

PDGFRA - Plate-derived growth factor receptor alpha

PI15- Inibidor de Peptidase-15

PRDM16 - PR domain containing 16

RA- Ácido Retinóico

SATB2 - Special at-rich sequence-binding protein 2 gene

SCHIP1- Schwannomin Interacting Protein 1

SHH - Sonic Hedgehog gene

SMOC2 - Sparc-related modular calcium-binding protein 2 gene

SNAI3- Snail family transcriptional repressor 3

SNP - Polimorfismo de Nucleotídeo Único

SREBF1 - Sterol regulatory element-binding transcription factor 1 gene

TBX5- T-box 5 gene

TBX22- T-box 22 gene

TFAP2A - Transcription factor AP2-alpha

TGFB3- Fator de crescimento transformador β -3

THBS3 – Gene da Trombospondina III

TP63 - Tumor protein p63

TRIM9 - Tripartite motif-containing protein 9 gene

TWIST1- Twist family bHLH transcription factor 1

WNT - Wingless-type mmtv integration site gene family

Resumo

Introdução: O termo fenótipo corresponde à expressão física e bioquímica da constituição genética de um indivíduo - ao genótipo. A morfogénese e o consequente desenvolvimento facial são eventos complexos na embriogénese humana, havendo evidências que apontam uma base genética neste mecanismo. Contudo, o conhecimento da relação entre variações do genoma e a expressão fenotípica facial é escasso.

Objetivos: Esta monografia teve como objetivo principal a revisão do estado da arte da influência genética no padrão de crescimento facial, bem como os eventuais genes candidatos associados. Adicionalmente, pretendeu-se esclarecer a comunidade médico-dentária sobre a possibilidade de existência de genes candidatos específicos para o crescimento maxilar e mandibular.

Metodologia: A metodologia adotada consistiu na realização de seis pesquisas bibliográficas de artigos científicos indexados na base de dados PUBMED[®]. Em três das pesquisas efetuadas não foram aplicados limites temporais, enquanto as restantes foram limitadas aos últimos dez anos. Como critérios de inclusão selecionaram-se artigos com base na sua relevância para o desenvolvimento desta monografia, nos idiomas português e inglês, compilando-se um total de 37 artigos. Adicionalmente, também se procedeu à leitura de informação relevante constante de um livro, da área científica explorada, disponível na biblioteca da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto.

Resultados: A literatura sobre forma da face sugere a existência de uma transmissão hereditária. No desenvolvimento inicial da mandíbula ocorre a segregação de vários genes. Também a altura facial e a posição da mandíbula apresentam um elevado componente hereditário. No que diz respeito à maxila, a desregulação de certas vias de sinalização resulta em alterações na forma facial.

Conclusões: A presente revisão bibliográfica poderá ser útil para futuros estudos genéticos, na medida em que realça quais os traços e genes faciais que devem ser alvo de pesquisa para prevenção de certas anomalias craniofaciais.

Palavras-chave: Variação da morfologia facial, Desenvolvimento craniofacial, Desenvolvimento facial, Desenvolvimento mandibular, Desenvolvimento do maxilar superior, Desenvolvimento maxilar, Genes

Abstract

Introduction: The term phenotype corresponds to the physical and biochemical expression of the genetic constitution of an individual - to the genotype. Morphogenesis and consequent facial development are complex events in human embryogenesis, with evidence that points to a genetic basis in this mechanism. However, the knowledge of the relationship between genome variations and facial phenotypic expression is scarce.

Objectives: This monograph had as main objective the revision of the state of the art of the genetic influence in the pattern of facial growth, as well as the possible candidate genes associated. Additionally, it was established as a specific objective to clarify the medical-dental community about the possibility of specific candidate genes for maxillary and mandibular growth.

Methods: The methodology adopted consisted of six bibliographic researches of scientific articles indexed in the PUBMED[®] database. In three of the researches, no time limits were applied, while the others were limited to the last ten years. As inclusion criteria, articles were selected based on their relevance to the development of this monograph, in the Portuguese and English languages, and a total of 37 articles were compiled. In addition, relevant information was also included in a book, from the scientific area explored, available in the library of Faculty of Dental Medicine, University of Porto.

Results: The literature on the form of the face suggests the existence of a hereditary transmission. In the initial development of the mandible occurs the segregation of several genes. Also the facial height and position of the mandible have a high hereditary component. With regard to the maxilla, the deregulation of certain signaling pathways results in changes in facial shape.

Conclusions: This literature review article may be useful for future genetic studies, in that it highlights which facial traits and genes should be studied to prevent certain craniofacial anomalies.

Keywords: Variation in facial morphology, Craniofacial development, Facial development, Mandibular development, Upper jaw development, Jaw development, Genes

1. Introdução

O termo fenótipo diz respeito à expressão física e bioquímica da constituição genética de um indivíduo, ou seja, ao seu genótipo. A distinção entre estes dois termos é bastante importante, uma vez que nem sempre há uma correspondência linear entre um gene e a ocorrência de determinada característica (1).

Na verdade, várias características complexas, tais como a cor do cabelo, a cor da pele, a altura, o peso, o comportamento e a suscetibilidade à doença, resultam da influência de vários genes. Por outro lado, tais características podem ser mais ou menos influenciadas pelo ambiente, o que significa que o mesmo genótipo pode resultar em diferentes fenótipos (1).

A morfogénese e o consequente desenvolvimento da face são dos eventos mais complexos da embriogénese humana e ocorrem entre a quarta e a quinta semana de gestação (2, 3). A sua complexidade anatómica, assim como o início precoce do seu desenvolvimento, tornam estas estruturas mais propensas a alterações genéticas e ambientais, o que se reflete na elevada incidência de anomalias craniofaciais. Estas constituem um dos defeitos congénitos mais comuns, apresentando consideráveis consequências a nível funcional, estético e social (3-6). De facto, a nosologia das síndromes de malformação humana facial é complexa. A base de dados OMIM® (Online Mendelian Inheritance in Man) possui diversos registos que evidenciam a existência de fendas faciais medianas, displasia/disostose frontonasal e nariz bífido (2).

Os mecanismos reguladores subjacentes ao desenvolvimento facial encontram-se conservados entre as diversas espécies (5). Nos humanos, a formação da face é, em parte, determinada por fatores genéticos, o que requer uma ação integrada de vários genes que codificam fatores de transcrição e moléculas sinalizadoras, elementos estes essenciais para a sua formação e diferenciação (2, 7). Contudo, a relação entre a variação genética e o desenvolvimento craniofacial ainda não é bem compreendida (7). Neste contexto, existem várias evidências científicas que identificam uma base genética na morfologia facial humana, embora o conhecimento da relação entre variações específicas de regiões do genoma e a expressão fenotípica facial seja escasso (8).

Relativamente aos fatores não genéticos, atualmente considera-se como principais os de natureza ambiental e epigenética que, interagindo, contribuem para a variação fenotípica (4). No entanto, a semelhança de aparência facial dentro das famílias, muitas vezes através de várias gerações, sugere que certos genes-chave

exercem grandes efeitos sobre a forma e aparência facial (9). A discordância de fenótipos em gêmeos, que constitui um indicador clássico da influência da variação genética *versus* fatores epigenéticos, pode providenciar dados adicionais no que concerne ao estudo da etiologia e patogênese das anomalias craniofaciais (4).

Até ao momento, apenas alguns estudos testaram associações entre aspectos da morfologia facial humana normal e variantes genéticas comuns (8). De modo a abordar a morfologia facial de forma mais objetiva a maioria destes estudos utiliza técnicas bidimensionais, recorrendo a métodos antropométricos, fotografias e radiografias de perfil, e aplicando programas estatísticos pouco capazes de lidar com perfis biológicos (10, 11). Recentemente, técnicas tridimensionais (3D) tais como a digitalização a laser, a fotogrametria e a imagem por ressonância magnética, têm sido uma alternativa menos invasivas para adquirir dados quantitativos da estrutura facial (10, 11). A combinação destas tecnologias com métodos potentes de análise da configuração de pontos de referência da face torna possível quantificar aspectos subtis da morfologia e variação facial, o que não acontece com a antropometria convencional (10).

O consórcio *FaceBase* (<https://www.facebase.org/>) oferece acesso a um repositório central de imagens da superfície facial 3D e a recursos de ADN para dados normativos (12).

Liu *et al.* (2012) avaliaram quantitativamente fenótipos faciais humanos, baseados em análises estatísticas de pontos de referência obtidos de imagens tridimensionais de ressonâncias magnéticas da cabeça. Os resultados deste estudo apontam para que alguns traços craniofaciais, tais como, a altura facial e a posição da mandíbula, sejam mais hereditários do que outros. De acordo com a evidência científica, a morfologia dos ossos craniofaciais é determinada, sobretudo pela influência genética, sendo pequena a interferência de fatores ambientais (3).

Com efeito, a morfologia facial é do interesse de uma variedade de áreas científicas que tratam da evolução craniofacial (antropologia), reconstrução e identificação faciais forenses (ciência forense), reconhecimento facial (ciência da computação), previsões de crescimento e desenvolvimento facial (ortodontia clínica) e percepção dos traços faciais nas interações sociais (sociologia e psicologia) (11).

A compreensão da base genética para a variação facial normal tem importantes implicações para a saúde, uma vez que o intervalo de variação para qualquer traço facial geralmente exhibe sobreposição substancial entre indivíduos afetados e saudáveis (8). Efetivamente, o estudo da contribuição genética para os traços faciais específicos tem

especial interesse em diversas áreas médicas e médico-dentárias de atuação direta na morfologia humana, como é o caso da ortodontia (10).

Neste âmbito, esta monografia teve como objetivo principal a revisão do estado da arte da influência genética no padrão de crescimento facial, bem como os eventuais genes candidatos associados. Adicionalmente, estabeleceu-se como objetivo específico esclarecer a comunidade médico-dentária sobre a possibilidade de existência de genes candidatos específicos para o crescimento mandibular e maxilar.

2. Material e métodos

A metodologia adotada consistiu, numa primeira fase, na realização de três pesquisas bibliográficas de artigos científicos indexados na base de dados PUBMED® (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine) limitadas aos últimos dez anos e a artigos nos idiomas português e inglês.

Na primeira pesquisa utilizaram-se as palavras-chave “craniofacial development” e “genes”, tendo-se obtido um total de 277 artigos, dos quais se selecionaram 18, de acordo com a relevância do título e resumo.

Na segunda pesquisa utilizaram-se as palavras-chave “variation in facial morphology” e “genes”, tendo-se obtido um total de 97 artigos, dos quais se selecionaram 12, de acordo com a relevância do título e resumo. Destes 12 artigos, quatro eram comuns à primeira pesquisa.

Numa terceira pesquisa utilizaram-se as palavras-chave “facial development” e “genes”, tendo-se obtido um total de 29 artigos, dos quais se selecionaram sete, de acordo com a relevância do título e resumo. Destes 7, 3 eram comuns às pesquisas anteriores.

Numa segunda fase, realizaram-se mais três pesquisas de artigos científicos indexados na base de dados PUBMED® sem limite de tempo e nos idiomas português e inglês. Assim, na quarta pesquisa utilizaram-se as palavras-chave “mandibular development” e “genes”, tendo-se obtido um total de 9 artigos, dos quais se selecionaram 3, de acordo com a relevância do título e resumo.

Numa quinta pesquisa utilizaram-se as palavras-chave “upper jaw development” e “genes”, tendo-se obtido um total de 4 artigos, dos quais se selecionaram 3, de acordo com a relevância do título e resumo.

Numa sexta pesquisa utilizaram-se as palavras-chave “jaw development” e “genes”, tendo-se obtido um total de 23 artigos, dos quais selecionaram 6, de acordo com a relevância do título e resumo. Destes 6, 5 eram comuns às pesquisas anteriores.

Obteve-se assim um total de 37 artigos bibliográficos para leitura integral, durante um período de consulta de 15/10/2016 a 10/04/2017. Adicionalmente procedeu-se à recolha de informação de relevo constante de um livro, da área científica abordada, disponível na biblioteca da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto.

3. Resultados

A face humana é um complexo anatômico altamente variável e com uma forte componente hereditária. É composto por estruturas que, em conjunto, tornam cada ser humano único, distinguível e reconhecível (8-10, 13). Embora a genética da face tenha sido estudada durante vários anos, conhecem-se relativamente poucos genes com impacto no desenvolvimento e forma facial normal (13). De facto, durante muito tempo, as características faciais dismórficas foram o foco de vários estudos clínicos e genéticos, ao contrário do que sucedia com a variação facial normal (11). Contudo, a investigação da face de pacientes com anomalias craniofaciais pode ser muito elucidativa, uma vez que os genes envolvidos em padrões de desenvolvimento craniofacial atípico também podem estar envolvidos na variação craniofacial típica. A região do gene onde esta mutação/variação está localizada pode ser funcionalmente responsável pela característica craniofacial ou estar em desequilíbrio de ligação com a variante que está a afetar diretamente o fenótipo (14).

O desenvolvimento craniofacial é um processo complexo modulado pela expressão de múltiplos genes embrionários precisamente cronometrados no tempo e no espaço, atuando em sintonia com fatores de transcrição, moléculas sinalizadoras, hormonas e fatores biomecânicos (15-18). A forma como esses genes interagem e como o seu mau funcionamento influencia o comportamento celular são, na maioria, pouco claros (19). Atualmente, com o desenvolvimento de vários painéis de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP's), a exploração da variação genética de traços complexos, entre eles os craniofaciais, parece encaminhar-se para a disseção da variação genética em *loci* individuais (11).

Com o objetivo de estabelecer associação entre a base genética e o fenótipo facial, inúmeros estudos estimaram a hereditariedade associada à forma facial, considerando este carácter facial como um dos possíveis de estudo, pela aplicação de diferentes métodos (9).

Cole *et al.* (2016) descrevem um estudo genético humano em grande escala no qual identificam e replicam com sucesso marcadores genéticos associados à variação facial normal. Para tal, recorreram a imagens faciais 3D de 3505 crianças e adolescentes africanos de Mwanza (região da Tanzânia), com idades compreendidas entre os 3 e os 21 anos. Esta população foi selecionada por possuir características que minimizavam fatores que pudessem interferir com a morfologia facial, tais como a idade e o excesso

de gordura subcutânea. Para além disso a região referida destacava-se por ter um clima bastante constante, o que diminuía a influência de fatores ambientais. Estes autores identificaram dois genes replicados associados a medidas de tamanho facial humano, nomeadamente SNP's do *SCHIP1* na região do cromossoma 3q25.33 e SNP's do *PDE8A* na região do cromossoma 15q25.3. Uma vez que estes genes não haviam sido previamente implicados na morfogénese facial, os autores decidiram avaliar qual o papel dos mesmos, procedendo à quantificação da sua expressão nos tecidos faciais do rato durante o seu desenvolvimento. Neste estudo demonstrou-se que o gene *SCHIP1* era expresso em múltiplos tecidos, incluindo a face em desenvolvimento, mais especificamente, nos processos nasais, maxilar e mandibular. De modo semelhante, o gene *PDE8A* foi expresso principalmente na face. A análise da sequência de ARN deste gene demonstrou que a sua expressão ocorre principalmente no mesênquima de todas as proeminências faciais, com pouca ou nenhuma expressão ectodérmica durante estes mesmos períodos de desenvolvimento crítico (13).

Numa publicação posterior, ainda sobre a população da Tanzânia, Cole *et al.* (2017) referem que muitos fenótipos da forma facial avaliados quantitativamente, derivados de digitalizações faciais 3D de alta precisão, são altamente hereditários, e que a maioria pode ser explicada por variantes convencionais ao longo do genoma. Em particular, com base na hereditariedade, várias medidas horizontais, incluindo a largura facial, a largura nasal, a largura intercantal externa e o comprimento da fenda palpebral, parecem estar entre aquelas características faciais que mais provavelmente exibem um padrão hereditário, variando de 28 a 67%. Contrariamente aos achados de estudos anteriores de hereditariedade da face, o tamanho facial global parece estar entre os traços faciais com maior evidência de padrão hereditário. Os mesmos autores observaram que tanto o tamanho quanto as medidas faciais comuns em avaliação facial (alometria) apresentam um padrão genético correlacionado com medidas faciais que incluem alguns aspetos da altura facial, largura da face e prognatismo facial inferior. Esse padrão de correlações genéticas provavelmente reflete a influência global do crescimento somático sobre a forma facial (9). De facto, alguns traços craniofaciais, tais como a altura facial e posição da mandíbula, parecem evidenciar um componente hereditário mais forte do que outros (3).

Shaffer *et al.* (2016) observaram sete associações em cinco traços craniofaciais que excedem o limite convencional para significância genética de grande escala, nomeadamente para a largura da base craniana em 14q21.1 e 20q12, a largura intercantal em 1p13.3 e Xq13.2, a largura nasal em 20p11.22, o comprimento da asa nasal em 14q11.2 e a profundidade facial superior em 11q22.1. Sabe-se que vários genes nas regiões associadas desempenham papéis no desenvolvimento craniofacial ou em síndromes que afetam a face: *MAFB*, *PAX9*, *MIPOL1*, *ALX3*, *HDAC8* e *PAX1* (Tabela I). Também foram testadas as associações genótipo-fenótipo relatadas em estudos anteriores do genoma e encontraram-se evidências de replicação para o comprimento da asa do nariz e SNP's em *CACNA2D3* e *PRDM16*. A mais significativa destas associações foi a largura da base craniana em 20q12, a 410kb a jusante do gene *MAFB*, que codifica um fator de transcrição implicado previamente em fendas orofaciais e em características faciais em famílias com esta anomalia. Estes fenótipos são consistentes com o papel de desenvolvimento do *MAFB* na regulação da migração de células da crista neural durante o desenvolvimento de características músculo-esqueléticas da cabeça. Ao todo, estas linhas de evidência sugerem um possível papel para o *MAFB* na variação facial normal (8).

Publicação	SNP	Gene	Efeito
Paternoster <i>et al.</i> , 2012	rs7559271	<i>PAX3</i>	Distância <i>nasion</i> -intercantal média
Liu <i>et al.</i> , 2012	rs4648379 rs168686344, rs12694574, rs974448 rs17447439 rs6555969 rs805722	<i>PRDM16</i> <i>PAX3</i> <i>TP63</i> <i>CSORF50</i> <i>COL17A1</i>	Largura e altura do nariz Distância entre os globos oculares e o <i>nasion</i> Distância entre os globos oculares Posição do <i>nasion</i> Distância entre os globos oculares e o <i>nasion</i>
Adhikari <i>et al.</i> , 2016	rs12644248 rs1852985 rs17660804 rs927833 rs3827760	<i>DCHS2</i> <i>RUNX2</i> <i>GLI3</i> <i>PAX1</i> <i>EDAR</i>	Inclinação da columela Largura da ponte do nariz Largura da asa do nariz Largura da asa do nariz Protrusão de queixo
Shaffer <i>et al.</i> , 2016	rs6129564 rs17106852 rs17106852 rs619686 rs11093404 rs2424399	<i>MAFB</i> <i>PAX9</i> <i>MIPOL1</i> <i>ALX3</i> <i>HDAC8</i> <i>PAX1</i>	Largura da base craniana Largura da base craniana Largura da base craniana Largura Intercantal Largura Intercantal Largura nasal
Cole <i>et al.</i> , 2016	rs79909949 rs12909111, rs12908400	<i>SCHIP1</i> <i>PDE8A</i>	Tamanho do centróide Alometria

Tabela I: SNP's de genes que influenciam a morfologia facial, de acordo com publicações de diferentes GWAS.

Fonte: Adaptado de Roosenboom *et al.* (2016), sem autorização do autor.

Num estudo de Djordjevic *et al.* (2016) o fenótipo facial foi caracterizado por componentes principais e distâncias lineares baseados em 37 pontos de referência antropométricos identificados manualmente em imagens faciais 3D. Os seus resultados revelaram que os fatores genéticos podem explicar mais de 70% da variação fenotípica facial no que diz respeito ao tamanho facial, nariz (largura, proeminência e altura), proeminência dos lábios e distância inter-ocular. Estes autores, ainda relativamente à variação fenotípica facial, atribuem um papel mais preponderante da influência ambiental na determinação da altura do ramo mandibular e no desenvolvimento de assimetria facial horizontal. A descoberta destes autores relativamente à altura do ramo mandibular está de acordo com um recente estudo cefalométrico realizado em 141 pares de gémeos adultos da Lituânia, cujo crescimento mandibular estava completo e a zigotia confirmada. Os resultados do último estudo referido indicam que a forma e a posição sagital da mandíbula estão sob uma influência genética mais forte do que o seu tamanho e relação vertical com a base craniana. Para medidas lineares como o comprimento do corpo mandibular, a largura do ramo e a altura do ramo, verificou-se uma determinação genética reduzida (11).

Djordjevic *et al.* (2016) referem que os traços faciais de tecidos moles em gémeas adultas britânicas evidenciam hereditariedade moderada a alta, o que é concordante com estudos anteriores familiares e estudos realizados com gémeos. Estes investigadores verificaram ainda que em famílias indianas foram encontradas elevadas correlações entre pais e irmãos para a posição mandibular, proeminência do queixo, proeminência nasal, largura nasal, comprimento do lábio no filtro, proeminência do lábio e altura facial (11).

Weinberg *et al.* (2013) revelaram um componente hereditário na variação de forma de estruturas centrais da face, tais como a região inter-orbital, nariz e lábio superior. O estudo referido revelou que a distância horizontal entre os olhos, o comprimento, a largura e a projeção do nariz e a altura e projeção do lábio superior apresentavam um elevado componente hereditário. Os resultados deste estudo sobrepõem-se tanto aos resultados de estudos antropométricos mais tradicionais que utilizavam distâncias lineares padrão para quantificar estruturas da superfície facial, como aos resultados de estudos mais recentes, realizados em pares de gémeos, e que recorrem a imagens 3D (10).

Estudos familiares e em gémeos mostram um grau moderado a alto de hereditariedade para um conjunto substancial de traços craniofaciais. A altura facial, a

largura e as características nasais, em particular, possuem um componente genético mais forte do que a profundidade facial. Outras características faciais locais com elevada hereditariedade incluem as órbitas, nariz, mandíbula e dentes (14).

Liu *et al.* (2012) identificaram cinco *loci* genéticos independentes (1p36.23-p33, 2q35, 3q28, 5q35.1, e 10q24.3), associados a diferentes fenótipos faciais, sugerindo o envolvimento de cinco genes candidatos na formação da face humana, respectivamente o *PRDM16*, o *PAX3*, o *TP63*, o *C5ORF50* e o *COL17A1* (Tabela I) (3).

Para além dos genes referidos nos estudos clínicos anteriores, outros têm sido envolvidos no desenvolvimento craniofacial. O gene *PRDM16* que parece atuar por mediação a jusante do *TGFb*, sinaliza o desenvolvimento de tecidos orofaciais. Estudos em modelo animal (rato) confirmaram o papel do *PRDM16* no desenvolvimento craniofacial, verificando-se que a mutação induzida da *N-ethyl- N-nitrosourea*, resultava no desenvolvimento de fenda palatina e outros defeitos craniofaciais, incluindo a hipoplasia mandibular. Além disso, variantes no locus humano do gene *PRDM16* têm sido implicados na fenda labial não sindrómica, com ou sem fenda palatina (NSCL/P) (3).

O gene *PAX3* codifica um importante fator de transcrição expresso nas células da crista neural, que são uma população de células totipotentes que contribuem para a diferenciação da maioria dos tipos celulares na face dos seres vertebrados (3). Segundo Liu *et al.* (2012), o resultado mais robusto que obtiveram foi o que se situava no locus deste gene, o que era consistente com um recente GWAS de Paternoster *et al.* (2012), demonstrando uma forte evidência estatística de que este gene estaria envolvido na morfologia facial. É de salientar, que ambos os GWAS foram realizados em Europeus (3, 14). Em humanos, o *PAX3* é um dos seis genes mutados na síndrome de Waardenburg, que se caracteriza por uma variedade de fenótipos relacionados com a crista neural, incluindo dismorfia facial *minor*, manifestada como uma base nasal larga e uma maior distância entre os cantos medianos ou cantos do olho (telecantos). Estudos em ratos demonstraram que uma falha na regulação do gene *PAX3* (por retroação negativa), durante a diferenciação da crista neural, conduzia à fenda palatina, devido aos efeitos inibitórios na osteogénese. Um GWAS recente detetou uma associação entre o gene *PAX3* e a posição do *nasion* (3). Segundo o estudo de Roosenboom *et al.* (2016), o gene *PAX3* pode afetar significativamente o intervalo típico da variação facial, incluindo a largura da ponte nasal (12).

O gene *TP63* codifica um fator de transcrição pertencente à família do gene da *p53*, cuja função é gerir a sinalização do desenvolvimento e morfogénese epitelial. Mutações heterozigóticas no *TP63* humano foram associadas a síndromes caracterizadas por defeitos orofaciais, tais como displasia ectodérmica com ectrodactilia e fenda/lábio leporino e displasia ectodérmica com fenda/lábio leporino e anquilobefaria. Adicionalmente, o gene *TP63* foi associado à NSCL/P em humanos e a sua ausência em modelos de ratos apresenta o mesmo fenótipo de fenda orofacial que o encontrado em humanos (3).

Os dois *loci* mapeados próximo do *C5ORF50* e *COL17A1* não foram anteriormente implicados no desenvolvimento facial. As variantes de ADN associadas afetavam genes vizinhos ou, alternativamente, identificavam o *C5ORF50* e *COL17A1* como potenciais novos atores na regulação molecular do padrão facial (3).

Adel *et al.* (2017) obtiveram imagens cefalométricas de 216 indivíduos Japoneses e 227 Coreanos com morfologia craniana normal e examinaram os polimorfismos genéticos que pudessem estar associados com variações craniofaciais normais. Para tal, genotiparam quatro SNP's do gene *FGFR1* (gene do recetor 1 do fator de crescimento de fibroblastos), nomeadamente o rs881301, rs6996321, rs4647905, e rs13317. O gene *FGFR1*, localizado em 8p11.1, contém 19 exões que abrangem ADN de 55 kb e codifica pelo menos 9 isoformas do gene *FGFR1*. Este gene desempenha um papel importante no desenvolvimento do sistema nervoso, na regulação do desenvolvimento esquelético e na homeostasia óssea. O gene *FGFR1* é altamente expresso em locais de ossificação membranosa da linha média e mutações neste gene afetam o desenvolvimento do crânio, mais especificamente das suturas e sincondroses, resultando em craniosinostoses e anomalias faciais. Existem estudos que sugerem uma associação entre variantes do gene *FGFR1* e fenda não síndrómica (20).

Os resultados do estudo de Adel *et al.* (2017) indicam que indivíduos com os alelos derivados de SNP's rs13317 e rs6996321 tinham uma face pequena e um padrão facial associado a uma face média retruída e olhos relativamente largos, que por sua vez resultou na protrusão da fronte, assim como uma área da órbita e das bochechas relativamente amplas. Por sua vez, o rs4647905 não foi significativamente associado com a morfologia craniana, mas observou-se uma associação significativa com o padrão da forma mandibular. Os autores concluíram que as medidas cranianas e mandibulares dos indivíduos coreanos são, em média, maiores do que as dos Japoneses (20).

De facto, as variantes normais do gene *FGFR1* exercem efeitos menores sobre a sua expressão e função do que as mutações, o que resulta numa ampla gama de fenótipos. Coussens e van Daal (2005) estudaram a associação entre variantes do gene *FGFR1* e a morfologia craniofacial em populações normais e identificaram 17 SNP's, que foram associados com o índice cefálico e fenótipos faciais específicos (20).

Vários estudos moleculares, histológicos e imunohistológicos indicam que o gene *ALX4* (Human aristaless like 4 gene) tem um papel preponderante no desenvolvimento craniofacial, assim como no desenvolvimento da pele e do folículo capilar em humanos (2). Em humanos, a mutação da família de genes *Aristaless-like* (*ALX*) é conhecida por causar displasia frontonasal (FDN), uma condição caracterizada por hipertelorismo, ponte nasal gravemente deprimida e extremidade nasal bífida (21). Os autores Kayserili *et al.* (2009) descreveram um novo fenótipo de displasia frontonasal associada com alopecia e hipogonadismo em duas famílias consanguíneas da Turquia. No seu estudo, mapearam o cromossoma 11p11.2-q12.3 e identificaram uma mutação homozigótica *nonsense* no gene *ALX4* em ambas as famílias. Esta mutação provoca um encurtamento da proteína *ALX4* que afeta um homeodomínio importante. (2).

O desenvolvimento craniofacial é distinto do resto do corpo. Atualmente pensa-se que o desenvolvimento embrionário da região craniofacial seja dependente do desenvolvimento neural normal. Com efeito, como a crista neural dá origem a estruturas esqueléticas faciais e aos tecidos conjuntivos da face, anomalias na diferenciação rostro-caudal da crista neural causam irregularidades faciais. Para o crescimento e formação facial normais, a sinalização de múltiplos fatores de crescimento deve ser altamente coordenada, tanto espacial como temporalmente, caso contrário ocorrem anomalias (19).

Inicialmente, a face em desenvolvimento consiste nos processos maxilares, medial e lateral, que juntos formarão o maxilar superior; e os processos mandibulares que darão origem à mandíbula. O crescimento coordenado dos mesmos e a sua fusão final são essenciais para o desenvolvimento de uma face normal. Assim, a presença de múltiplos genes, num período temporal preciso, é necessária tanto para o desenvolvimento palatino normal, como para a sua ossificação que está de igual modo, sob controlo genético. A semelhante segregação rostral / caudal e medial / lateral de produtos genéticos ocorre em quase todas as regiões em desenvolvimento facial. Esta condição é especialmente verificada no desenvolvimento inicial da mandíbula, em que a

segregação dos genes *EDN1*, *BMP4* e *FGF-8* é rostral, enquanto a segregação dos genes *GSC*, *MSX1*, *MSX2*, *BARX1*, *PAX9* e *LHX6* ocorre caudalmente (19).

A mandíbula é uma estrutura morfológica complexa que se desenvolve a partir de células da crista neural que se situam no primeiro arco faríngeo e o seu crescimento advém de um rigoroso controlo genético. Alguns dos genes essenciais no seu desenvolvimento codificam fatores de transcrição de genes *homeobox*, tais como os genes *GSC*, *DLX*, *LHX*, *MSX1*, *WNT* (22). Funato *et al.* (2016) mostraram no seu estudo que *HAND2* é suficiente para a transformação da maxila em mandíbula, regulando a expressão de fatores de transcrição de genes *homeobox* em ratos. De facto, o fator de transcrição *HAND2*, que é conservado entre os vertebrados com mandíbula, é expresso na crista neural no processo mandibular, mas não no processo maxilar do primeiro arco branquial. (23).

O gene *EDN1* é importante no desenvolvimento dorsoventral do primeiro arco branquial. A sua perda ou inibição em vários modelos animais resulta na perda ou transformação parcial da mandíbula inferior. Em contraste, a incorreta expressão do gene *EDN1* altera o desenvolvimento do maxilar superior. Mutações neste gene associam-se ao desenvolvimento da síndrome auriculocondilar, caracterizada por uma retrognatía grave (24).

Raramente existe apenas um gene responsável por uma alteração morfológica, pelo que se considera que há uma rede reguladora complexa que controla esses eventos (19). Por conseguinte, durante o desenvolvimento craniofacial, as principais famílias de genes implicadas em certas condições craniofaciais (por exemplo, o *FGF*, o *BMP*, o *SHH* e o *WNT*), cooperam na coordenação dos principais processos biológicos como o crescimento e formação da face (4, 5, 25).

Os *FGFR'S* pertencem à via de sinalização do gene *FGF*, que é essencial na morfogénese craniofacial, particularmente no crescimento e forma das proeminências maxilares, na função de sutura craniana, bem como no desenvolvimento ósseo endocondral e intramembranoso (24). Recentemente, um sequenciamento completo do exoma em cinco irmãos com hipoplasia maxilar identificou uma mutação heterozigótica *missense* c.545C> T (p.Ser182Phe) no gene *DUSP6* (12q21.3) (12, 24). Num estudo em modelos de rato, a expressão do gene *DUSP6* correlacionou-se com os domínios *FGFR'S* nos arcos branquiais, sendo estimulada pela sinalização do gene *FGF*. Consequentemente, parece ser possível que variantes dentro do gene *DUSP6* possam

explicar a má oclusão de Classe III devido à hipoplasia maxilar subsequente à fusão prematura das suturas maxilares (12).

A via de sinalização das BMP's contribui não só para a forma e funcionalidade dos traços faciais, como também, regula o crescimento craniofacial pós-natal ao nível dos ossos cranianos, maxila, mandíbula, palato e dentes (21). De facto, é necessária para o desenvolvimento mesenquimal das proeminências faciais (16). Com efeito, polimorfismos genéticos e mutações nos genes da via das BMP's têm sido associados a várias malformações craniofaciais humanas não sindrómicas e sindrómicas (21). Estudos mostram que ratos mutantes para os genes *CHD* e *NOG*, moduladores da proteína morfogénica óssea (BMP), apresentam defeitos mandibulares que variam de hipoplasia mandibular a micrognatia e agnatia. O gene *NOG* humano foi o primeiro antagonista das BMP's identificado e é essencial para vários eventos tardios no desenvolvimento mandibular, que requerem modulação da atividade das BMP's (26).

Os genes *BMP2* e *BMP4* são expressos nos processos maxilares e mandibulares. Os genes *MSX1* e *MSX2*, alvos diretos da sinalização das BMP's, também são expressos no desenvolvimento de processos faciais incluindo o FNP, os processos maxilares e os processos mandibulares em embriões de galinhas. A regulação negativa de *MSX1* e *MSX2* através da aplicação de ácido retinóico resulta na inibição do crescimento do bico superior da galinha. Os ratos com carência de *BMP7* têm uma maxila e uma mandíbula mais curtas (micrognatia) (21).

As mutações do recetor tipo 1A (*BMPRIA*) da proteína morfogenética óssea (BMP) estão associadas a dismorfia facial e a defeitos no coração, que constituem os principais sinais clínicos tanto na polipose juvenil como em síndromes de deleção do cromossoma 10q23. Saito *et al.* (2012) obtiveram evidências genéticas de que a sinalização mediada pelo *BMPRIA* é essencial para a sobrevivência de células mesenquimais derivadas da crista neural e no desenvolvimento normal do osso nasal e frontal. Este estudo sugere que o modelo de estudo em ratos apresentado é útil para analisar alguns aspetos da etiologia molecular da dismorfia craniofacial humana, uma vez que as anomalias faciais que obtiveram no seu estudo em ratos mimetizam o hipertelorismo e a ponte nasal plana observada em pacientes com síndrome de polipose juvenil e síndrome de deleção do cromossoma 10q23. Para além disso, tanto em humanos como nos ratos do estudo, detetaram-se defeitos semelhantes do septo do coração (27).

A atividade do gene *WNT* é crítica na morfogênese craniofacial (28). A sinalização do gene *WNT* / β -Catenina é responsável pelo desenvolvimento intrínseco do maxilar superior antes da fusão dos lábios (29). A desregulação desta sinalização resulta em alterações significativas na forma facial e tem sido associada a fenótipos de fenda palatina quer em ratos, como em humanos (28). Os resultados de Kawakami *et al.* 2014 sugeriram que o gene Dickkopf-1 (*Dkk-1*), um inibidor da via de sinalização *WNT* / β -Catenina, regula a morfogênese maxilar em embriões de galinha através de sinais dos genes *LHX8*, *MSX1* e *MSX2* (29). De facto, são vários os genes que regulam a palatogênese, incluindo o *Sonic hedgehog* (*SHH*), o fator de crescimento fibroblástico 8 (*FGF8*), o fator de transcrição AP-2 (*TFAP2*), e *plate-derived growth factor receptor alpha* (*PDGFRA*) (28).

Estudos em modelo de rato em que a expressão dos genes da via *WNT* foi analisada demonstraram que deleções dos genes *WNT1*, *3a*, *5a* e *9b* interferem com o desenvolvimento facial. A deleção do gene *WNT3A* em ratos causou a morte após o nascimento devido a defeitos mandibulares. No entanto, a causa da falha na alimentação (presumivelmente uma fenda palatina) não foi caracterizada. A deleção do gene *WNT9B* causou fenda labial em alguns dos embriões. A deleção total de *WNT5A* provocou um exuberante déficit dos maxilares (superior e inferior) (25).

Geetha-Loganathan *et al.* (2009) estudaram a expressão dos genes da via de sinalização do *WNT* durante o desenvolvimento craniofacial da galinha. Os seus dados indicam que o *WNT16* poderia ser importante na formação da sutura epitelial entre a proeminência frontonasal e as proeminências maxilares. Estes autores também advogam ser possível o desempenho de um papel de controlo do gene *WNT11* sobre o crescimento inicial do lábio, embora considerem que este gene não participa ativamente na sua fusão (25).

Som *et al.* (2014) identificaram cinco famílias-chave de fatores de crescimento que controlam o crescimento facial através da regulação da proliferação e sobrevivência celular. Estes fatores incluem fatores de crescimento de fibroblastos, fator de transformação de crescimento e proteínas morfogenéticas ósseas, o gene *Sonic hedgehog*, o gene *WNT* e o gene da endotelina-1 (*EDN1*). Para além dos genes mencionados, verificaram igualmente as contribuições dos genes *Jagged 1* e *2* (*JAG1* e *2*), fatores de crescimento derivados de plaquetas e genes *homeobox* (19).

A determinação de proporções de hereditariedade moderadas a elevadas (> 60%) foram relatadas para muitas características dentárias e faciais, tais como dimensões da parte média e inferior da face e o espaçamento dentário. A má-oclusão é uma condição heterogênea que afeta populações em todo o mundo e resulta no comprometimento da função, estética e qualidade de vida (12, 24). Várias fontes de dados sugerem que os fatores genéticos contribuem para a suscetibilidade à má-oclusão (12). Um estudo de associação genômica (GWAS) identificou *loci* associados à má-oclusão de classe III, incluindo o 1p36, o 1p22.3, o 1q32.2, o 3q26.2, o 4p16, o 6q25, o 11q22, o 12q13.13, o 14q24 e o 19q13.2, em famílias asiáticas e hispânicas. As aplicações de mapeamento fino dentro dos *loci* 1p22-p36 e 12q13-q24 relataram associações de prognatismo mandibular com os genes *EPB41*, *MATN1*, *COL2A1*, *MYO1H*, *TGFB3* e *LTBP2*. Em pacientes com *osteogênese imperfecta* e síndrome de Ehlers-Danlos, ambas envolvendo anomalias faciais com presença de diferentes graus de má-oclusão, incluindo manifestações como micrognatia, proeminência frontal e hipoplasia do andar médio da face, foram encontradas mutações no gene *COL1A1* (24). As variantes no gene *MATN1* (1p35) foram associadas com prognatismo mandibular (12).

Estudos genéticos de má-oclusão de classe I e II detetaram associações entre o gene *NOGGIN* e a ocorrência de hipoplasia mandibular (24). Em quatro famílias colombianas, indivíduos com hipoplasia mandibular foram homozigóticos para o alelo raro do SNP rs1348322, dentro do gene *NOGGIN*. Este gene é essencial para a formação mandibular em ratos (12).

Nimmagadda *et al.* (2015) tentaram identificar possíveis mediadores da mudança de identidade na proeminência maxilar, tendo incluído no seu estudo genes da via de sinalização de RA, BMP e WNT bem como fatores de transcrição expressos no desenvolvimento craniofacial. No estudo desenvolvido constatou-se a existência de alterações de expressão em vários genes mal caracterizados, incluindo a regulação positiva do Inibidor de Peptidase-15 (PI15). Como uma estratégia de expressão positiva retroviral testaram o efeito funcional da sobre-expressão de PI15, tendo o vírus PI15 induzido um bico fendado análogo ao lábio fendado humano. Os autores questionaram-se se os efeitos de PI15 foram mediados por alterações na expressão dos principais genes de fenda e genes na via de sinalização de retinóides, tendo verificado que a expressão dos genes *TP63*, *TBX22*, *BMP4* e *FOXE1* (todos os genes envolvidos em fenda humana) foi sobre regulada. Segundo os mesmos autores, sinais mediados na parte anterior do cérebro por retinóides, BMP4 (Proteína Morfogenética Óssea 4), FGF8

(Fibroblast Growth Factor) e SHH (Sonic Hedgehog) influenciam as células da crista neural na linha média. Além disso, o gene *SHH* da placa ventral de assoalho do tubo neural induz a expressão epitelial dos genes *SHH* e *FGF8* na zona frontonasal que, por sua vez, regulam a largura facial (17).

Os registros ortodônticos pré-tratamento constituem uma valiosa fonte de dados fenotípicos. Entre estes, radiografias cefalométricas laterais bidimensionais (2D) podem ser utilizadas para gerar fenótipos quantitativos e categóricos através de abordagens cefalométricas ou métodos de pontos de referência baseados na forma, como a morfometria geométrica (MG). As abordagens de MG proporcionam maior resolução na detecção da variação de forma de estruturas complexas do que os métodos cefalométricos (24).

O estudo de Fontoura *et al.* (2015) avaliou as associações entre os genes craniofaciais candidatos e a variação facial esquelética em pacientes com má-oclusão. Para este efeito, realizaram radiografias cefalométricas de perfil de 269 adultos não-tratados com má-oclusão esquelética de classe I, II e III, sendo estas classificações de classes esqueléticas utilizadas como fenótipo categórico. Os indivíduos foram genotipados para 198 polimorfismos de nucleotídeo único (SNP's) em 71 genes/*loci* craniofaciais. Dois genes, *SNAI3* e *TWIST1*, foram particularmente sugestivos como relevantes para a variação craniofacial. Os SNP's nos genes *FGFR2*, *EDN1*, *TBX5* e *COL1A1* mostraram associações sugestivas com o tipo de má-oclusão esquelética. Concretamente, mutações no gene *FGFR2* são encontradas em pacientes com síndrome de Apert e de Crouzon. Em ambas as condições clínicas referidas, a hipoplasia maxilar e o prognatismo relativo da mandíbula (pseudoprognatismo) são observados (24).

O gene *SNAI3* é um membro da família *SNAIL* de fatores de transcrição, que contribuem para a formação da mesoderme e da crista neural. O gene *SNAI3* é expresso nas proeminências faciais que dão origem aos maxilares superior e inferior. Os resultados de Fontoura *et al.* (2015) indicam que este gene está associado à variação craniofacial, variando de perfis severamente côncavos a convexos. A deleção específica de *SNAI1* na crista neural conduz a múltiplos defeitos craniofaciais, incluindo deficiência mandibular semelhante à sequência de Pierre Robin, indicando que os genes da família *SNAIL* podem modular o crescimento da mandíbula. Assim, futuros estudos desta família de genes e do seu papel na má-oclusão são justificados (24).

A ocorrência de mutações e deleções no gene *TWIST1* são encontradas em pacientes com síndrome de Saethre-Chotzen, uma condição associada a um amplo

espectro de anomalias craniofaciais, incluindo craniossinostose, hipoplasia maxilar, palatos estreitos, assimetria facial com septo nasal desviado e fenda palatina. Uma vez que a hipoplasia maxilar é um achado comum em pacientes com craniossinostose, pode-se especular que a variação genética em *TWIST1* também pode resultar em ossificação prematura das suturas maxilares levando a má-oclusão de classe III devido à hipoplasia maxilar. Os resultados de Fontoura *et al.* (2015) indicam que o gene *TWIST1* está relacionado com a variação de tamanho, de curto a longo, dos corpos mandibulares. A inativação de *Twist1* em células da crista neural do arco mandibular resulta em encurtamento mandibular e na formação anormal do ramo com processos condilares e coronoides ausentes ou malformados (24).

Embora sejam informativos estes estudos são limitados por reduzidos tamanhos de amostra, generalização pouco clara para populações de ascendência não asiática e uso de fenótipos restritos (como o prognatismo mandibular) que não abrangem a complexidade fenotípica da má-oclusão (12, 24). Assim, são necessários estudos genéticos adicionais associados a uma total fenotipagem para reduzir a heterogeneidade e aumentar o poder de detecção de associações genéticas (24).

Recentemente, estudos em ratos demonstraram que os amplificadores de transcrição de longo alcance regulam a expressão de genes próximos e distantes durante o desenvolvimento craniofacial, resultando em diferenças subtis na forma craniofacial (12, 30).

O uso de modelos animais para melhorar a compreensão dos determinantes genéticos nos processos de desenvolvimento humano é a essência da medicina translacional (31). De facto, a arquitetura genética da variação da forma facial tem sido estudada mais amplamente em ratos do que em seres humanos. No rato, as medidas de morfologia craniofacial são altamente hereditárias e o seu crânio está integrado em termos de correlações fenotípicas e genéticas. As correlações genéticas e ambientais também tendem a ser semelhantes (9).

Pallares *et al.* (2015) recorreram a um modelo de rato (*outbred*) específico para identificar os *loci* genéticos que afetavam a forma craniofacial, sendo que alguns dos *loci* que identificaram, eram conhecidos a partir de estudos anteriores, pela sua contribuição para o desenvolvimento craniofacial e formação óssea (7). Estes autores descobriram que a forma e o tamanho craniofacial são características altamente hereditárias e poligénicas. Os resultados deste estudo identificaram 17 *loci* que explicam a variação na forma do crânio, e 8 *loci* associados à variação na forma da mandíbula (7,

14). O principal gene candidato identificado no estudo em questão, *MNI*, é um gene que apareceu num momento em que os animais começaram a formar crânios ósseos, sugerindo que pode ser um gene chave nesta inovação evolutiva. Os seus resultados sugerem que o *MNI* e outros genes envolvidos na formação da cabeça são também responsáveis pela regulação mais minuciosa da sua forma (7).

Du *et al.* (2012) caracterizaram os padrões de expressão da família dos genes *GLI* na face do embrião de ratos e encontraram padrões de expressão diferenciais que podem indicar que cada um desempenha diferentes papéis no desenvolvimento facial. Dos três genes, a expressão de *GLI1* foi maior nos estágios iniciais do desenvolvimento facial, a expressão de *GLI3* foi maior na segunda metade do desenvolvimento facial (e permaneceu estável depois disso), enquanto a expressão de *GLI2* permaneceu baixa ao longo do desenvolvimento facial. Em seres humanos, mutações dos genes *GLI2* e *GLI3* resultam em anomalias craniofaciais (32).

Estudos anteriores demonstraram que as vias moleculares envolvidas no desenvolvimento craniofacial humano são conservadas em diversas espécies, tais como ratos, galinhas, rãs e peixe-zebra. Os estudos nesses organismos complementaram as análises genéticas humanas e ampliaram a compreensão das vias moleculares envolvidas no desenvolvimento craniofacial (5, 28).

O peixe-zebra (*Danio rerio*) é um dos modelos experimentais mais significativos para estudar os fatores ambientais e genéticos que influenciam o desenvolvimento craniofacial, devido à sua embriogénese de fácil visualização e manipulação. Melvin *et al.* (2013) escolheram genes de ratos com padrões de expressão dinâmica e examinaram a sua potencial função no desenvolvimento craniofacial usando uma abordagem genética reversa no peixe-zebra (5). Neste animal, identificaram ortólogos de genes candidatos de ratos quando submeteram sequências de genes dos ratos a análise BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) contra bancos de dados de proteínas e transcrição do peixe-zebra. Em geral, o grande número de ortólogos de peixe-zebra identificáveis aos genes candidatos dos ratos suporta a ideia de que os genes expressos na face do rato durante o desenvolvimento craniofacial são conservados entre espécies vertebradas. Em embriões de ratos detetaram a expressão do gene *MACC1* (metastasis associated with the colon cancer 1) na ectoderme das proeminências mandibulares e maxilares, bem como na ectoderme e no mesênquima das proeminências frontonasais. Recentemente, as mutações no gene *SMOC2* têm sido associadas a defeitos de desenvolvimento na dentição de seres humanos e peixes-zebra (5).

Aves e mamíferos têm estruturas faciais embriológicas comuns e parecem utilizar o mesmo conjunto de ferramentas de desenvolvimento genético molecular. Com base neste pressuposto, Brugmann *et al.* (2010), utilizaram a variação natural encontrada nos bicos de 3 aves (patos, codornizes e galinhas) para investigar quais os genes que orientam a morfogénese facial dos vertebrados. Um total de 232 genes foram diferencialmente expressos entre as três espécies, dos quais vinte e dois destes, incluindo o *FGFR2*, o *JAGGED2*, o *MSX2*, o *SATB2* e o *TGFB3*, constituíam genes previamente implicados em vários defeitos craniofaciais de mamíferos. Os autores encontraram também 72 genes que residem em intervalos genómicos associados com várias anomalias craniofaciais humanas e que são uma nova fonte de genes candidatos para esses distúrbios. Alguns desses genes são o *MTX1*, *THBS3*, *BTF3L2*, *HES1*, *CDKN3*, *TRIM9*, *ALDH3A2*, *SREBF1*, *GATA6*, *LZTR1*, *MED15* (6).

De facto, o embrião de galinha é um valioso modelo experimental para estudar os sinais que controlam a fusão dos lábios, uma vez que o palato primário aviário se assemelha ao palato primário mamífero. O gene *MORN5* (*Membrane occupation and recognition nexus repeat containing 5*), codificado por um locus posicionado no cromossoma 17 do genoma da galinha, parece ser importante na formação da maxila e, possivelmente, na fusão labial (16).

Cela *et al.* (2016) para analisar em detalhe a expressão do gene *MORN5* em estruturas craniofaciais de embriões de galinhas recorreram à técnica de hibridização *in situ*. Através desta abordagem os autores encontraram expressão espacial e temporalmente restrita do gene *MORN5* na área da face durante o desenvolvimento embrionário, o que é sugestivo da sua ação na formação das proeminências maxilares. A expressão restrita do gene *MORN5* na zona de fusão labial suporta os dados genéticos humanos nos quais as variantes *MORN5* foram associadas com um risco aumentado de fenda labial não sindrómica com ou sem fenda palatina. Adicionalmente, os autores observaram que o gene *MORN5* foi regulado negativamente 24 horas após o tratamento com a proteína *Noggin* e / ou ácido retinóico (RA), o que permitiu concluir que o gene em questão é regulado e requerido para a sinalização das BMP's. A expressão de BMP's na face de galinhas foi encontrada antes e durante a fusão dos lábios (16).

Liu *et al.* (2012) confirmaram a ligação entre os SNPs localizados em 2p21, 8q24, 13q31, e 17q22 de fenda (NSCL/P) e a variação normal da forma facial, baseada numa abordagem de genes candidatos. Os seus dados sugerem que as variantes

genéticas associadas à NSCL/P também influenciavam a variação da forma facial normal, incluindo a largura do nariz e da face (3).

O maxilar superior e outros ossos faciais originam-se principalmente das células da crista neural (NCC), que são células precursoras multipotentes que contribuem para a maior parte da face (17, 33, 34). Sabe-se que as células pré-migratórias da crista neural contêm uma quantidade limitada de informações sobre o maxilar inferior, e que o maxilar superior e a linha mediana facial são formados posteriormente por interações teciduais locais (17). O desenvolvimento do maxilar superior depende de muitos fatores de desenvolvimento, como o fator de crescimento de fibroblastos, moléculas de sinalização, recetores e outras proteínas. A falta destes fatores de crescimento ou o impacto de fatores exógenos adversos resultam em várias malformações, como é o caso da fenda palatina (33).

A etiologia das fendas é multifatorial, sendo a genética apenas uma base "desencadeada" por causas ambientais. Considera-se que a genética desempenha um papel crucial em 20% dos casos, sendo os genes *MSX1* e *TGFβ3* os que mais se relacionam com estas anomalias. O gene *MSX1* está localizado no cromossoma 4p16.1 e é responsável principalmente pela formação do palato secundário, pelo que as mutações dentro deste gene são responsáveis por fenda palatina isolada. Quando ocorrem em paralelo com a mutação do gene *PAX9* e mutações do *MSX1* conduzem à formação de fenda labial e palatina (35)

O gene *TFAP2A* é um regulador mestre de diferenciação e desenvolvimento da crista neural. A existência de mutações no gene *TFAP2A* causam síndrome branquio-oculofacial caracterizada por características faciais dismórficas, incluindo fenda ou pseudofenda do lábio / palato. Enkhmandakh *et al.* (2015) observaram picos de ligação no gene *TFAP2A* nas regiões reguladoras de muitos genes alvo envolvidos no desenvolvimento de tecidos faciais incluindo o *MSX1*, o *IRF6*, o *TBX22* e o *MAFB*. A remoção do gene *MSX1* do rato provoca uma fenda completa do palato secundário e uma variedade de outros defeitos craniofaciais. As mutações no gene *MSX1* humano poderiam representar aproximadamente 2% dos casos de fenda labial e palatina não sindrómica (36).

A forma da mandíbula no rato é um traço complexo que é influenciado por muitos fatores genéticos. No entanto, pouco se sabe sobre a ação de genes únicos na forma da mandíbula adulta, uma vez que a maioria dos genes relevantes para o desenvolvimento é necessária durante a embriogénese, isto é, o desenvolvimento de

knockouts conduzem à morte embrionária ou a deformações graves, antes que a mandíbula esteja totalmente formada. Boell *et al.* (2013) encontraram que diferenças de forma subtis, mas significativas, são causadas por diferenças na dosagem de vários genes. Os autores focaram-se nos genes da via *BMP* (*BMP4*, o seu antagonista *NOGGIN* e combinações de genótipos *BMP5-7*), mas também incluíram os genes *EGFR* e *IRF6*, suspeitos de afetar de alguma forma o desenvolvimento mandibular. Além disso, estudaram os efeitos de *HOXD13*, bem como o *COL2A1*, um constituinte da matriz extracelular. De acordo com os seus resultados, o alelo *BMP^{4S2KHAMyc}* apresenta um processo coronoide alongado e um côndilo encurtado. As mandíbulas de ratos heterozigotos *NOGGIN* apresentaram um côndilo diminuído, um processo angular distal mais estreito e a base do seu processo coronoide mais prolongada anteriormente. Além disso, as mandíbulas *NOGGIN* (+/-) são 7% maiores do que as mandíbulas *NOGGIN* (+/+), o que constitui uma diferença significativa de tamanho. Os animais Heterozigotos para o gene *EGFR* exibem alterações de forma em toda a mandíbula, incluindo côndilo e processo angular prolongado e deslocado, um processo coronoide mais delgado e um incisivo deslocado. Nas mandíbulas de ratos heterozigotos para o gene *HOXD13*, o processo coronoide é deslocado posteriormente e o processo angular é mais estreito e deslocado dorsalmente (37).

De acordo com as publicações de Graham *et al.* (2002) e Jeong *et al.* (2008), os fatores de transcrição *DLX* estão implicados na modelagem dos maxilares de mamíferos, sendo que a expressão regionalmente restrita dos genes *DLX* modela o eixo próximo-distal do arco faríngeo durante o desenvolvimento dos vertebrados. A inativação de *DLX1* e *DLX2* causa defeitos no maxilar superior, enquanto a inativação dos genes reguladores *DLX-5* e *DLX-6* conduz à transformação do maxilar inferior num maxilar superior (34, 38). A pesquisa sobre um modelo canino da Sequência de Pierre Robin revelou que uma inserção de LINE-1 no homólogo ao gene *DLX6* humano é responsável por fenda palatina e anomalias mandibulares (14).

Para obter informações sobre o potencial papel dos genes *FOXP* no desenvolvimento de regiões específicas da face, Cesario *et al.* (2016) examinaram os seus padrões de expressão no primeiro arco faríngeo (primórdio da mandíbula) de embriões de ratos, tendo verificado que o *FOXP1* e *FOXP2* foram preferencialmente expressos nas partes mais distal ao estomodeu e posterior do primeiro arco faríngeo, incluindo a articulação temporomandibular em desenvolvimento. De facto, de acordo com a literatura, mutações que afetam o *FOXP1* e *FOXP2* foram encontradas em

pacientes que apresentavam deficiências funcionais generalizadas nos músculos da face e pescoço (dificuldade em mastigar, engolir, tossir, rir) e características faciais características (face triangular, fronte proeminente, nariz curto e largo, orelhas baixas, olhos inclinados para baixo, palato alto, diastemas dentários) (18).

4. Discussão

O entendimento dos processos evolutivos que geraram e mantiveram a diversidade morfológica na natureza é um objetivo de longa data na biologia. O crânio e a mandíbula dos vertebrados é um bom exemplo de tal diversidade. O facto de estes ossos estarem associados ao cérebro e aos sistemas sensoriais, respiratório e digestivo, tornam estas estruturas um excelente exemplo de alta integração e elevada evolução (7).

Enquanto a variação facial está sujeita a modificadores ambientais tais como a idade e o estado nutricional, semelhanças faciais marcantes dentro de famílias sugerem uma forte componente genética, sendo a hereditariedade de algumas medidas faciais na ordem dos 94% (13). No entanto, pouco se sabe sobre como a variação em regiões específicas do genoma se relaciona com os tipos de características faciais distintivas que tornam as nossas identidades únicas, como por exemplo, o tamanho e a forma do nariz ou a distância a que os olhos estão distanciados (8). Com efeito, existem várias fontes de conhecimento que fornecem informações sobre como os genes afetam os padrões de desenvolvimento facial (Figura 1) (14).

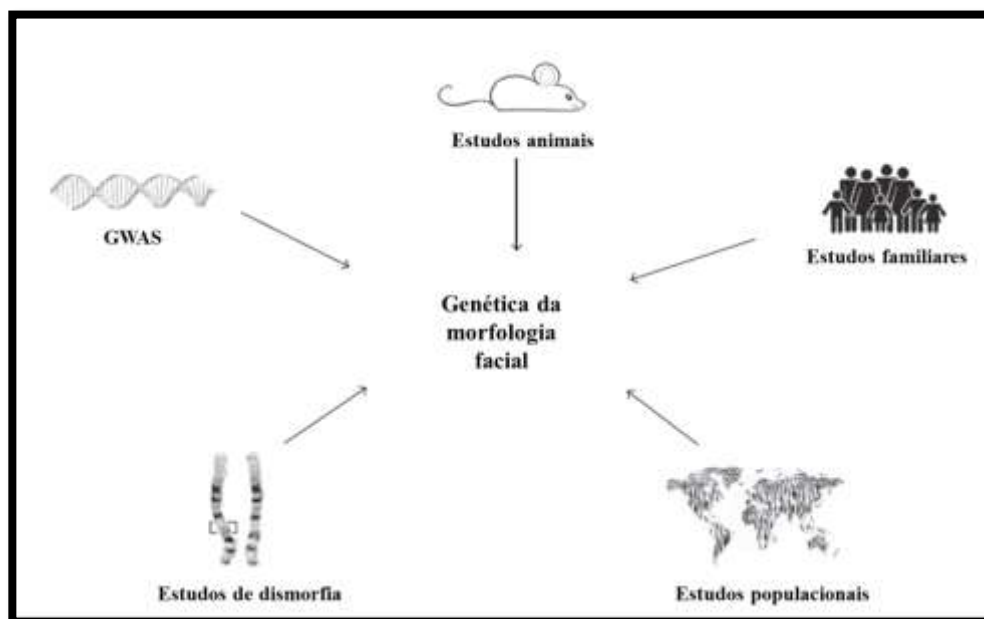


Fig. 1: Várias fontes de conhecimento sobre a genética da morfologia facial.

Fonte: Adaptado de Roosenboom *et al.* (2016), sem autorização do autor.

Atualmente, os principais fatores não genéticos que se pensa que, ao interagirem, contribuem para a variação fenotípica, são agentes ambientais e fatores epigenéticos. A patogénese das formas mais comuns de anomalias craniofaciais, as

condições não-sindrômicas, permanece particularmente desafiadora porque estas surgem, provavelmente, de uma combinação de interações poligênicas complexas com influências ambientais (4). Em qualquer população, a hereditariedade é determinada por uma combinação de variância genética e influências ambientais (9).

Para entender os mecanismos subjacentes à patogênese humana, foram necessários avanços significativos na área da fenotipagem, que é o estudo abrangente do conjunto completo de fenótipos possíveis sobre um indivíduo. A referida área juntamente com os avanços na aquisição de dados genômicos em larga escala maximizaram a eficiência na detecção de correlações genótipo-fenótipo de importância clínica, o que permitiu entender os mecanismos genéticos subjacentes à variação facial (12).

No entanto, os estudos de associação genética e de genoma geral sobre a variação facial, principalmente em adultos, produziram resultados pouco consistentes, o que pode ser consequente ao uso de métodos de fenotipagem incongruentes (13, 15). Esses estudos diferem no desenho do estudo (gêmeos ou progenitor-descendente), no modo como os dados são adquiridos (radiografias, exames 3D de superfície facial, ressonância magnética médica ou tomografia computadorizada), o tamanho das amostras, a densidade da característica e o tipo de medidas extraídas e analisados (por exemplo, distâncias entre características ou componentes principais) (14).

Nos últimos 15 anos, a integração da genética humana e animal com a embriologia experimental, biologia celular e bioquímica melhorou a compreensão dos processos normais de desenvolvimento craniofacial e forneceu novos conhecimentos sobre a etiologia e patogênese de muitas condições craniofaciais. Na verdade, tem ocorrido um significativo avanço tecnológico na forma como obtemos e analisamos o genoma, incluindo a inteira sequenciação do exoma e do genoma, hibridização genômica comparativa (CGH) e os *arrays* de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP). Estas abordagens são extremamente poderosas quando aplicadas a condições hereditárias como no caso de ensaios de pai/parente com um fenótipo consistente e reprodutível. Contudo, os mecanismos precisos de muitas das doenças craniofaciais mais comuns permanecem desconhecidos (4).

A avaliação morfológica da variação facial requer tipicamente o *landmarking* manual, uma metodologia que é lenta, exige mão-de-obra intensiva, e é muito suscetível a erros, o que complica a sua aplicação a estudos de grande escala, bem como comparações entre vários estudos. A realização de digitalizações faciais fornecem

medições muito mais precisas do que as abordagens anteriores, com base em medições manuais diretas, entre características faciais proeminentes. Além disso, o cálculo direto da partilha do genoma a partir de dados genómicos é mais preciso do que os coeficientes de parentesco utilizados nas análises de hereditariedade tradicional, que representam a partilha genética média para qualquer relação e não a correlação genética real para qualquer par específico de parentes (9, 11).

Até à data, apenas alguns estudos têm testado explicitamente as associações entre aspectos da morfologia facial humana normal e variantes genéticas comuns. Entre estes, dois estudos de associação de grande escala (GWA) foram realizados em indivíduos saudáveis de ascendência europeia recorrendo a imagem facial 3D e a uma combinação de métodos morfométricos tradicionais e mais avançados para derivar fenótipos (3, 8).

O estudo de Cole *et al.* (2016) é um dos primeiros a demonstrar as associações genéticas replicadas do genoma global de fenótipos faciais morfométricos em seres humanos e o primeiro relatado numa população africana. Contudo, os autores não replicaram associações da forma facial, relatadas anteriormente, a partir de estudos de populações Europeias. Portanto, é possível que as diferenças de morfologia facial em diferentes populações humanas tenham diferentes bases genéticas (3, 13). Os diferentes resultados também podem dever-se ao facto de a coorte de estudo ser jovem e magra e, portanto, pode ser menos influenciada por fatores ambientais do que as coortes de estudo Europeias (9, 13). De facto, com exceção de uma sobreposição interessante no gene *TFAP2B* que se sabe causar a síndrome de Char, a maioria dos *loci* genéticos identificados por Cole *et al.* (2016) não foram implicados previamente no desenvolvimento facial humano, em síndromes com dismorfia facial, ou em modelos de animais mutantes (13).

O estudo de Naini e Moss *et al.* (2004) não mostrou diferenças entre a distância intercomissural labial e a altura do lábio superior, o que entra em contradição com os resultados obtidos por Djordjevic *et al.* (2016), que evidenciaram um contributo do componente genético superior a 60% para estas características. Estas diferenças podem ser explicadas pela pequena amostra utilizada no estudo de Naini e Moss (11).

Estudos humanos identificaram, independentemente, associações entre variantes no *PAX3* e a variação na morfologia da ponte nasal, especificamente relacionada com a posição relativa do *nasion* (10). A associação entre variantes *PAX3* e alterações anatómicas na região interorbital também foi verificada, um achado intrigante dado que

as mutações em *PAX3* causam síndrome de Waardenburg tipo 1 que é caracterizada por hipertelorismo entre outras anormalidades morfológicas (8).

Num GWAS, associações fenótipo-genótipo são investigadas em grandes populações, mas a sua utilização como uma tentativa para descobrir variantes genéticas responsáveis pela morfologia craniofacial ainda está numa fase precoce (14). A incapacidade de sistematizar a variação facial impediu a descoberta dos determinantes e correlações da forma da face. Em contraste com as tecnologias genómicas, a fenotipagem sistemática acabou por não se ter evoluído de forma tão rápida. Em GWAS, os fenótipos são resumidos como variáveis univariadas, o que é inerentemente limitante para traços multivariados, que, por definição, não podem ser expressos como variáveis singulares (11, 15).

Pelo menos três estudos (Coussens *et al.*, 2005; Gómez-Valdés *et al.*, 2013; Claes *et al.*, 2014) de genes candidatos relataram modestas associações entre variantes comuns no *FGFR1* e a variação normal na morfologia craniofacial, mas em cada caso estavam envolvidos diferentes grupos de traços. É notável que nenhum dos genes destes estudos, incluindo o *FGFR1*, foi identificado nos dois estudos GWA anteriores de morfologia facial (8, 15).

O estudo de Adel *et al.* (2017) foi o primeiro a utilizar cefalometrias laterais e postero-anteriores para a obtenção dos dados craniofaciais para examinar a associação dos polimorfismos do gene *FGFR1* com a variação normal da morfologia craniofacial. No entanto, as medidas cefalométricas estão associadas a erros classificados como "erros de projeção" e erros de identificação. As técnicas de imagem 3D recentes como a tomografia computadorizada de feixe cónico (CBCT) podem gravar e representar exatamente o tamanho do objeto (20).

Por outro lado, os estudos em humanos requerem aproximadamente 25,000 indivíduos para explicar 3 – 5% da variação da altura com GWS SNP's, e aproximadamente 250,000 para explicar 16%. Liu *et al.* (2012) recorrendo a aproximadamente 5,400 indivíduos, apenas descobriram no seu GWA cinco *loci* genéticos que contribuem para as diferenças normais na forma facial, representando um avanço significativo no conhecimento da determinação genética da morfologia facial (3). Pallares *et al.* (2015) explicaram 4-11 % da variação craniofacial usando aproximadamente 700 ratos (7).

Embora experiências genéticas em ratos proporcionem uma visão detalhada dos processos regulatórios que orientam o desenvolvimento craniofacial, pode ser difícil

avaliar ou prever como as estruturas homólogas serão afetadas devido a diferenças subtis no desenvolvimento entre espécies. A compreensão dessas diferenças não só ajuda no reconhecimento de modelos animais mais apropriados, mas também ajuda a decifrar melhor o impacto translacional de fatores genéticos e epigenéticos no desenvolvimento facial e na suscetibilidade à malformação (31). Os resultados de Pallares *et al.* (2015) confirmaram que a população específica de ratos (*outbred*) usada no estudo era a adequada para identificar fatores genéticos isolados mesmo em condições onde muitos genes cooperam para originar um fenótipo complexo (7).

O objetivo de regular qualquer anomalia craniofacial continua a ser o da prevenção, mas o desenvolvimento de terapêuticas para minimizar ou prevenir anomalias craniofaciais requer uma compreensão da etiologia precisa e patogênese de síndromes individuais de malformação. Só assim a detecção precoce no útero e a fenotipagem terão potencial para facilitar a intervenção e minimizar a manifestação de anomalias antes do nascimento. Por esta razão, os modelos animais continuarão a desempenhar um papel importante na definição dos mecanismos e processos que regem o desenvolvimento craniofacial normal e a etiologia e patogênese das anomalias craniofaciais (4).

Nos seres humanos, sabe-se que várias alterações genéticas causam lábio leporino, tais como mutações no *MSX1*, proteína tumoral 63 (*TP63*), fator regulador do interferão 6 (*IRF6*) e no *FGFR1* (21). Genes e *loci* associados com fendas orais (*IRF6*, *8q24*, *SNAIL*, *MSX1*, *ABCA4-ARHGAP29* e *MAFB*) foram relacionados com a variação facial normal e a características faciais dentro do espectro fenotípico da fenda. Os resultados dos estudos referidos ajudam a selecionar genes para projetos futuros, dados os papéis desses genes no desenvolvimento craniofacial e dentário (12).

Embora a realização de fotografias 2D possuam erros dimensionais, devido a variações na projeção e posicionamento do paciente, estas podem ser utilizadas para fenotipagem facial através de estimativas de proporções faciais, ângulos e análises de forma. A imagem 3D da superfície facial oferece dados mais precisos, sem erros devido à distorção da projeção ou ao posicionamento do paciente. Este método de imagem aumenta o alcance dos estudos de variação facial, podendo ser aplicado para detetar características de tecidos moles específicas de condições craniofaciais, tais como a fenda labial e palatina. Por exemplo, até à data, a imagem 3D forneceu visualização direta das alterações de tamanho e volume no côndilo produzido por efeitos ortopédicos. Os portadores de alelos de risco podem ser rastreados para prevenção, e os alelos de

risco podem ser direcionados para intervenções farmacêuticas que podem aumentar a eficiência de aparelhos ortopédicos em pacientes com discrepâncias maxilomandibulares (12). Assim, estudos futuros devem considerar examinar diferenças de tecidos moles para descobrir a etiologia genética da variação esquelética e de tecidos moles em pacientes com má-oclusão (24).

5. Conclusão

Este artigo de revisão bibliográfica poderá ser útil para futuros estudos genéticos, na medida em que realça quais os traços e genes faciais que devem ser alvo de estudo. A compreensão dos fenómenos biológicos e da arquitetura genética que definem a complexidade do desenvolvimento facial permitirá o progresso não só de tratamentos que sejam mais eficazes em certas anomalias craniofaciais, como também a prevenção das mesmas.

6. Bibliografia

1. Hartl DL, Ruvolo M. Genetics: Jones & Bartlett Publishers; 2011.
2. Kayserili H, Uz E, Niessen C, Vargel I, Alanay Y, Tuncbilek G, et al. ALX4 dysfunction disrupts craniofacial and epidermal development. *Human molecular genetics*. 2009;18(22):4357-66.
3. Liu F, van der Lijn F, Schurmann C, Zhu G, Chakravarty MM, Hysi PG, et al. A genome-wide association study identifies five loci influencing facial morphology in Europeans. *PLoS genetics*. 2012;8(9):e1002932.
4. Trainor PA, Richtsmeier JT. Facing up to the challenges of advancing Craniofacial Research. *American journal of medical genetics Part A*. 2015;167(7):1451-4.
5. Melvin VS, Feng W, Hernandez-Lagunas L, Artinger KB, Williams T. A morpholino-based screen to identify novel genes involved in craniofacial morphogenesis. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*. 2013;242(7):817-31.
6. Brugmann SA, Powder KE, Young NM, Goodnough LH, Hahn SM, James AW, et al. Comparative gene expression analysis of avian embryonic facial structures reveals new candidates for human craniofacial disorders. *Human molecular genetics*. 2010;19(5):920-30.
7. Pallares LF, Carbonetto P, Gopalakrishnan S, Parker CC, Ackert-Bicknell CL, Palmer AA, et al. Mapping of Craniofacial Traits in Outbred Mice Identifies Major Developmental Genes Involved in Shape Determination. *PLoS genetics*. 2015;11(11):e1005607.
8. Shaffer JR, Orlova E, Lee MK, Leslie EJ, Raffensperger ZD, Heike CL, et al. Genome-Wide Association Study Reveals Multiple Loci Influencing Normal Human Facial Morphology. *PLoS genetics*. 2016;12(8):e1006149.
9. Cole JB, Manyama M, Larson JR, Liberton DK, Ferrara TM, Riccardi SL, et al. Human Facial Shape and Size Heritability and Genetic Correlations. *Genetics*. 2017;205(2):967-78.
10. Weinberg SM, Parsons TE, Marazita ML, Maher BS. Heritability of Face Shape in Twins: A Preliminary Study using 3D Stereophotogrammetry and Geometric Morphometrics. *Dentistry 3000*. 2013;1(1).
11. Djordjevic J, Zhurov AI, Richmond S. Genetic and Environmental Contributions to Facial Morphological Variation: A 3D Population-Based Twin Study. *PloS one*. 2016;11(9):e0162250.
12. Moreno Uribe LM, Miller SF. Genetics of the dentofacial variation in human malocclusion. *Orthodontics & craniofacial research*. 2015;18 Suppl 1:91-9.
13. Cole JB, Manyama M, Kimwaga E, Mathayo J, Larson JR, Liberton DK, et al. Genomewide Association Study of African Children Identifies Association of SCHIP1 and PDE8A with Facial Size and Shape. *PLoS genetics*. 2016;12(8):e1006174.
14. Roosenboom J, Hens G, Mattern BC, Shriver MD, Claes P. Exploring the Underlying Genetics of Craniofacial Morphology through Various Sources of Knowledge. *BioMed research international*. 2016;2016:3054578.
15. Claes P, Liberton DK, Daniels K, Rosana KM, Quillen EE, Pearson LN, et al. Modeling 3D facial shape from DNA. *PLoS genetics*. 2014;10(3):e1004224.
16. Cela P, Hampl M, Fu KK, Kunova Bosakova M, Krejci P, Richman JM, et al. MORN5 Expression during Craniofacial Development and Its Interaction with the BMP and TGFbeta Pathways. *Frontiers in physiology*. 2016;7:378.
17. Nimmagadda S, Buchtova M, Fu K, Geetha-Loganathan P, Hosseini-Farahabadi S, Trachtenberg AJ, et al. Identification and functional analysis of novel facial patterning genes in the duplicated beak chicken embryo. *Developmental biology*. 2015;407(2):275-88.
18. Cesario JM, Almaidhan AA, Jeong J. Expression of forkhead box transcription factor genes Foxp1 and Foxp2 during jaw development. *Gene expression patterns : GEP*. 2016;20(2):111-9.

19. Som PM, Streit A, Naidich TP. Illustrated review of the embryology and development of the facial region, part 3: an overview of the molecular interactions responsible for facial development. *AJNR American journal of neuroradiology*. 2014;35(2):223-9.
20. Adel M, Yamaguchi T, Tomita D, Nakawaki T, Kim YI, Hikita Y, et al. Contribution of FGFR1 Variants to Craniofacial Variations in East Asians. *PloS one*. 2017;12(1):e0170645.
21. Graf D, Malik Z, Hayano S, Mishina Y. Common mechanisms in development and disease: BMP signaling in craniofacial development. *Cytokine & growth factor reviews*. 2016;27:129-39.
22. Rot I, Mardesic-Brakus S, Costain WJ, Saraga-Babic M, Kablar B. Role of skeletal muscle in mandible development. *Histology and histopathology*. 2014;29(11):1377-94.
23. Funato N, Kokubo H, Nakamura M, Yanagisawa H, Saga Y. Specification of jaw identity by the Hand2 transcription factor. *Scientific reports*. 2016;6:28405.
24. da Fontoura CS, Miller SF, Wehby GL, Amendt BA, Holton NE, Southard TE, et al. Candidate Gene Analyses of Skeletal Variation in Malocclusion. *Journal of dental research*. 2015;94(7):913-20.
25. Geetha-Loganathan P, Nimmagadda S, Antoni L, Fu K, Whiting CJ, Francis-West P, et al. Expression of WNT signalling pathway genes during chicken craniofacial development. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*. 2009;238(5):1150-65.
26. Gutierrez SJ, Gomez M, Rey JA, Ochoa M, Gutierrez SM, Prieto JC. Polymorphisms of the noggin gene and mandibular micrognathia: a first approximation. *Acta odontologica latinoamericana : AOL*. 2010;23(1):13-9.
27. Saito H, Yamamura K, Suzuki N. Reduced bone morphogenetic protein receptor type 1A signaling in neural-crest-derived cells causes facial dysmorphism. *Disease models & mechanisms*. 2012;5(6):948-55.
28. Curtin E, Hickey G, Kamel G, Davidson AJ, Liao EC. Zebrafish wnt9a is expressed in pharyngeal ectoderm and is required for palate and lower jaw development. *Mechanisms of development*. 2011;128(1-2):104-15.
29. Kawakami M, Okuda H, Tatsumi K, Kirita T, Wanaka A. Inhibition of Wnt/beta-catenin pathway by Dickkopf-1 [corrected] affects midfacial morphogenesis in chick embryo. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2014;117(6):664-9.
30. Attanasio C, Nord AS, Zhu Y, Blow MJ, Li Z, Liberton DK, et al. Fine tuning of craniofacial morphology by distant-acting enhancers. *Science (New York, NY)*. 2013;342(6157):1241006.
31. Brinkley JF, Mejino JL, Detwiler LT, Travillian RS, Clarkson M, Cox T, et al. Towards understanding craniofacial abnormalities: the ontology of craniofacial development and malformation. *AMIA Joint Summits on Translational Science proceedings AMIA Joint Summits on Translational Science*. 2013;2013:20.
32. Du J, Fan Z, Ma X, Wu Y, Liu S, Gao Y, et al. Different expression patterns of Gli1-3 in mouse embryonic maxillofacial development. *Acta histochemica*. 2012;114(6):620-5.
33. Novakovic J, Mardesic-Brakus S, Vukojevic K, Saraga-Babic M. Developmental patterns of Ki-67, bcl-2 and caspase-3 proteins expression in the human upper jaw. *Acta histochemica*. 2011;113(5):519-26.
34. Jeong J, Li X, McEvilly RJ, Rosenfeld MG, Lufkin T, Rubenstein JL. Dlx genes pattern mammalian jaw primordium by regulating both lower jaw-specific and upper jaw-specific genetic programs. *Development (Cambridge, England)*. 2008;135(17):2905-16.
35. Paradowska-Stolarz A. MSX1 gene in the etiology orofacial deformities. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online)*. 2015;69:1499-504.
36. Enkhmandakh B, Bayarsaihan D. Genome-wide Chromatin Mapping Defines AP2alpha in the Etiology of Craniofacial Disorders. *The Cleft palate-craniofacial journal : official publication of the American Cleft Palate-Craniofacial Association*. 2015;52(2):135-42.

37. Boell L, Pallares LF, Brodski C, Chen Y, Christian JL, Kousa YA, et al. Exploring the effects of gene dosage on mandible shape in mice as a model for studying the genetic basis of natural variation. *Development genes and evolution*. 2013;223(5):279-87.
38. Graham A. Jaw development: chinless wonders. *Current biology* : CB. 2002;12(23):R810-2.

7.Anexos

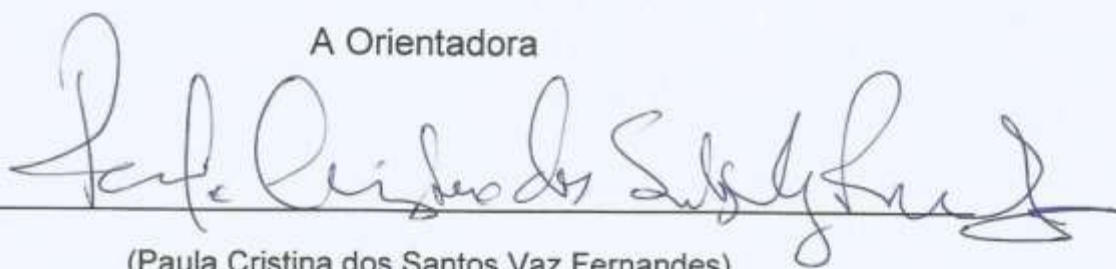
PARECER

(Entrega do trabalho final de Monografia)

Informo que o trabalho de Monografia desenvolvido pela Estudante Patrícia Daniela Silva Andrade com o título: "Fenótipo facial- influência genética?", está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 24 de Maio de 2017

A Orientadora

A handwritten signature in blue ink, reading "Paula Cristina dos Santos Vaz Fernandes", is written over a horizontal line.

(Paula Cristina dos Santos Vaz Fernandes)

PARECER

(Entrega do trabalho final de Monografia)

Informo que o trabalho de Monografia desenvolvido pela Estudante Patrícia Daniela Silva Andrade com o título: "Fenótipo facial- influência genética?", está de acordo com as regras estipuladas na FMDUP, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 24 de Maio de 2017

A Coorientadora

A handwritten signature in blue ink, written over a horizontal line. The signature is cursive and appears to read 'Inês Sansonetty Gonçalves Côte-Real'.

(Inês Sansonetty Gonçalves Côte-Real)

DECLARAÇÃO

Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica

Declaro que o presente trabalho, no âmbito da Monografia de Investigação/Relatório de Atividade Clínica, integrado no MIMD, da FMDUP, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

Porto, 24 de Maio de 2017

Patrícia Daniela Silva Andrade
(Patrícia Daniela Silva Andrade)